

• 临床检验研究论著 •

类风湿性关节炎患者抗核抗体及其多肽谱的检测

石青峰¹, 马 韵^{2△}, 杨 峻¹, 何永玲¹

(1. 桂林医学院附属医院检验科, 广西桂林 541001; 2. 广西医科大学第一附属医院病理科, 广西南宁 530021)

摘要:目的 分析类风湿性关节炎(RA)患者抗核抗体(ANA)和 ANA 谱检测结果, 探讨其在 RA 诊断中的临床应用价值。
方法 ANA 检测采用间接免疫荧光法, 抗核抗体谱检测采用免疫印迹法。**结果** 128 例 RA 患者中, ANA 阳性率达 79.7%, ANA 谱阳性率达 47.7%。ANA 与 ANA 谱检测结果呈正相关。RA 患者中 ANA $\geq 1:320$ 阳性时的荧光模式主要是核均质型, ANA 谱阳性抗体出现较多的是抗 SS-A、抗 Ro-52、抗 nRNP/Sm、抗 SS-B 等。**结论** 联合检测 RA 患者 ANA 及 ANA 谱, 能明确患者血清中的自身抗体种类, 为 RA 的诊断和疗效观察提供重要的参考指标。

关键词: 关节炎, 类风湿; 抗体, 抗核; 肽谱

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.23.024

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)23-2869-02

Detection and analysis of ANA and ANA profile in patients with rheumatoid arthritis

Shi Qingfeng¹, Ma Yun^{2△}, Yang Jun¹, He Yonglin¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China; 2. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

Abstract: **Objective** To explore the clinical significance of ANA and ANA profile in diagnosis of rheumatoid arthritis(RA). **Methods** ANA was measured by indirect immunofluorescence, ANA profile was measured by immunoblot assay. **Results** In the 128 samples, positive detection rate ANA and ANA profile were 79.7% and 47.7%. ANA showed a significantly positive correlation with ANA profile. In the samples for positive ANA with high titer($\geq 1:320$), ANA pattern were mainly Homogeneous-Nucleolar. ANA profile results indicated that the antinuclear antibodies were mainly anti-SSA, anti-Ro-52, anti-RNP/Sm and anti-SS-B. **Conclusion** Existence of multiple antibodies in RA patients may hint that the patients might have other autoimmune diseases or the risks for other autoimmune diseases. Combined with determination of ANA and ANA profile could explicit the kinds of multiple antibodies. It could provide more helps to diagnosis and treatment of RA.

Key words: arthritis, rheumatoid; antibodies, antinuclear; peptide mapping

目前对类风湿性关节炎(RA)的诊断主要根据临床表现、X线检查及类风湿因子(RF)检测等 1987 年美国风湿病协会修订的分类诊断标准为依据^[1]。RA 患者体内可能存在的多种自身抗体也成为诊断的重要依据^[2]。本文通过对 128 例 RA 患者的 ANA 和 ANA 谱进行检测, 以探讨这些指标在 RA 患者诊断中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 3 月至 2012 年 6 月在桂林医学院附院住院的 128 例 RA 患者, 其中男 40 例, 女 88 例, 年龄 9~80 岁, 平均 45.6 岁, 均符合 1987 年美国风湿病学会 RA 的诊断标准。RA 患者病情活动评估采用 DAS28 计分^[3]。

1.2 仪器与试剂 ANA 检测使用欧蒙 EUROStar II 型荧光显微镜, 采用德国欧蒙公司生产的 ANA 试剂盒。红细胞沉降率(ESR)检测使用北京同理大众科技有限责任公司 EHK40 型血沉仪检测。ANA 谱检测使用德国欧蒙公司生产的 15 项 ANA 谱检测试剂盒。

1.3 检测方法 抽取 RA 患者清晨空腹静脉血, 分离血清, 2~8℃保存 1 周内进行 ANA 及 ANA 谱检测。

1.3.1 ANA 检测 采用间接免疫荧光法。血清稀释度 $\geq 1:100$ 出现特异性荧光为 ANA 弱阳性, $\geq 1:320$ 出现特异性荧

光为 ANA 阳性。

1.3.2 ANA 谱检测 采用欧蒙免疫印迹法。检测的 15 项抗体包括: 抗 SS-A、抗 SS-B、抗 Ro-52、抗核糖核酸蛋白/Sm(nRNP/Sm)、抗核小体抗体、抗线粒体 M2(AMA M2)、抗 CENP B、抗 Sm、抗核糖体 P 蛋白、抗 Jo-1、抗 Scl-70、抗 dsDNA、抗 PCNA、抗组蛋白、抗 PM-Scl 等 15 种不同抗原 IgG 类抗体。

1.3.3 DAS28 评分计算公式 参照参考文献^[3]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析。计数资料采用 χ^2 检验; 两变量间的相关性分析采用 Kendall's TauB 相关分析; 计量资料采用中位数表示, 两组均数比较采用 Wilcoxon 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ANA 的荧光核型模式分布情况 见表 1。

2.2 ANA 谱检测结果 见表 2。

2.3 ANA 谱阳性组及阴性组临床指标的比较 ANA 谱阳性组与 ANA 谱阴性组相比, ESR 水平、DAS28 评分值差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 RA 患者血清中 ANA 与 ANA 谱的关系 见表 3。

△ 通讯作者, E-mail: yunandama@hotmail.com.

表 1 128 例 RA 患者 ANA 阳性荧光核型模式分布情况[n(%)]

ANA 滴度	阳性(n)	胞浆颗粒型	核颗粒型	核均质型	核仁型	着丝点型
ANA≥1∶100 阳性	102	64(43)	41(27.5)	37(24.8)	6(4.0)	1(0.7)
ANA≥1∶320 阳性	32	14(29.8)	10(21.3)	22(46.8)	1(2.1)	0(0)

表 2 RA 患者抗核抗体谱阳性分布及与 ANA 核型关系(总标本=128 例,阳性标本=6 例)

抗体种类	单项阳性(n)	单项阳性占总标本数比例(%)	单项阳性占阳性标本比例(%)	胞浆颗粒型(n)	核颗粒型(n)	核均质型(n)	核仁型(n)	着丝点型(n)
抗 SS-A	34	26.6	55.7	14	10	16	4	0
抗 Ro-52	31	24.2	50.8	16	8	14	3	1
抗 nRNP/Sm	13	10.2	21.3	4	6	10	0	0
抗 SS-B	10	7.8	16.4	1	1	6	3	0
抗核小体	6	4.7	9.8	2	2	5	0	0
抗 AMAM2	6	4.7	9.8	6	2	3	0	0
抗 CENPB	4	3.1	6.6	2	1	2	0	1
抗 Sm	4	3.1	6.6	2	2	3	0	0
抗核糖体 P 蛋白	4	3.1	6.6	0	2	2	0	0
抗 Jo-1	4	3.1	6.6	3	2	0	0	0
抗 Scl-70	3	2.3	4.9	2	0	3	0	0
抗 dsDNA	2	1.6	3.3	2	1	2	0	0
抗组蛋白	2	1.6	3.3	1	0	2	0	0
抗 PCNA	2	1.6	3.3	1	1	0	0	0
抗 PM-Scl	1	0.8	1.6	2	1	0	0	0

表 3 ANA 及 ANA 谱在 RA 的分布及相关性(n)

ANA 谱	ANA		合计
	+	—	
+	60	2	62
—	42	24	66
合计	102	26	128

3 讨 论

类风湿性关节炎是临床常见的 1 种致畸性自身免疫性疾病,早期诊断和早期治疗 RA 对病情缓解和预后意义重大^[4-5]。本文结果显示,RA 患者自身抗体出现率较高,ANA 滴度≥1∶100 阳性率达 79.7%,抗核抗体谱谱阳性率达 47.7%。ANA 可与不同来源的细胞核起反应,无器官特异性和种属特异性^[6]。而从 RA 患者的 ANA 荧光模式分布可以推测,RA 患者血清中总的抗核抗体针对细胞核成分的比例比针对细胞质成分的比例高,特别是当 ANA 结果为强阳性时。RA 中可检出抗 SS-A、抗 SS-B 等各种抗核抗体谱抗体^[7-10]。本文资料显示 RA 患者血清中 15 种抗核抗体谱抗体均可出现,但频率不一。而荧光核型给出的信息往往与某些特定的抗原成分分布特点相关^[11-12]。ANA 滴度大于或等于 1∶100 时出现频率较高的抗体类型为抗 SS-A 抗体、抗 Ro-52 和抗 AMA-M2 抗体。而 RA 患者 ANA 滴度大于或等于 1∶320 时,ANA 荧光模式主要为核均质型,出现频率较高的抗体类型

为抗 SS-A、抗 Ro-52 和抗 SS-B 抗体。RA 患者血清中出现这些自身抗体,并且抗核抗体谱阳性与 RA 活动性及关节病变程度无明显关系,或许预示了 RA 疾病的多器官的累及,也可能提示 RA 患者同时伴随有其他的自身免疫性疾病。综上所述,对 RA 患者进行 ANA 及抗核抗体谱的联合检测,能明确患者血清中哪些种类的自身抗体,从而为 RA 的诊断和疗效观察提供重要的参考指标。

参考文献

[1] A mett FC,Eolworthy SM,B loch DA,et al. The American rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum,1988,31(3):315-324.

[2] 许羚雁,黄宪章,庄俊华. 类风湿性关节炎的免疫学检测方法进展[J],国际检验医学杂志,2008,29(1):51-53.

[3] 雷玲,赵钺,米存东. 类风湿性关节炎病情活动指标与 DAS25 的相关性研究. [J]广西医科大学学报,2008;25(6):360-362.

[4] 富炳罡. 抗 CCP 抗体和 RF 联合检测对类风湿关节炎诊断的价值[J]. 中国实验诊断学,2010,14(6):910-911.

[5] 崔琢,李季青. 抗 CCP 抗体检测在类风湿性关节炎诊断中的价值[J]. 实用医学杂志,2010;26(3):482-483.

[6] 陆晓东,成海龙,潘红宁,等. 系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎患者 ANA、ENA 多肽谱及抗 ds-DNA 抗体联合检测的意义. [J] 山东医药,2009,49(20):80-81.

[7] 罗斌 曾永龙 黄玮,等. 联合检测抗核抗体、抗 ENA 谱、抗 dsDNA 抗体对 SLE 的临床价值分析[J]. 右江医学,2009,37(3):272-273.

(下转第 2872 页)

表 1 3 组凝血功能检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	PT(s)	INR	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)	PLT(10 ⁹ /L)
对照组	50	12.1±1.02	1.01±0.52	29.4±5.98	12.5±1.51	3.12±0.68	210.0±48
小于 2 000 mL 组	41	12.8±1.55	1.07±0.54	31.5±6.12	12.9±1.57	3.58±0.79	140.0±36 [▽]
大于或等于 2 000 mL 组	48	15.9±3.02 ^{▽*}	1.29±0.59 ^{▽*}	39.2±12.54 ^{▽*}	16.0±2.63 ^{▽*}	1.94±0.58 ^{▽*}	66.0±27 ^{▽*}

▽: $P<0.05$, 与对照组比较; *: $P<0.05$, 与小于 2 000 mL 组比较。

表 2 痊愈组与死亡组凝血功能检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	PT(s)	INR	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)	PLT(10 ⁹ /L)
痊愈组	86	13.4±2.34	1.12±0.61	35.8±8.97	13.5±1.65	2.78±0.69	184±36
死亡组	3	21.32±6.91 [▽]	2.05±1.06 [▽]	62.7±8.86 [▽]	18.6±2.14 [▽]	1.00±0.45 [▽]	41±15 [▽]

▽: $P<0.05$, 与痊愈组比较。

3 讨 论

凝血功能检验已成为外科手术前常规检测项目,对于确定是否实施手术、预测术后出血以及凝血异常患者的评估与准备都起到重要的作用^[2]。腹部闭合性损伤,尤其是实质性器官损伤,容易引起大出血,临床通常会采取自体回输血液或成分输血(一般为浓缩红细胞悬液),达到及时抢救、费用低廉且节约血源、降低输血引发感染、免疫及输血反应等目的^[3]。根据患者的临床需求选择成分输血已成为新的输血模式^[4]。患者输血后血细胞比容(HCT)、RBC 明显升高,但凝血功能没有改善,因为输注的是浓缩红细胞,基本没有 PLT 和凝血因子。因此,应及时对患者补充新鲜血浆、PLT 以及凝血因子避免凝血功能进一步恶化。腹部损伤引起机体过度炎症反应,从而激活并释放多种细胞因子,如前列腺素(PG)以及活化的补体 C3a 和 C5a,增加血管的通透性,使血浆成分渗出,加重组织缺氧^[5]。创伤、失血导致低体温及休克低灌注致代谢性酸中毒是致凝血因子活性下降的重要因素^[6]。由于血管内凝血和纤溶过程损耗血液中的凝血因子,更加重了凝血功能异常。

本研究显示,腹部闭合性损伤出血量大于或等于 2 000 mL 组与小于 2 000 mL 组比较,凝血功能 PT、INR、APTT、TT 均明显延长,PLT、FIB 明显降低。腹腔内局部凝血导致 PLT、FIB 降低,是由于局部凝血破坏 PLT 和纤维蛋白溶解亢进反应^[7]。出血致凝血因子直接丢失能够迅速降低体内少量储备的 FIB 及 PLT^[8]。本研究显示出血量大于或等于 2 000 mL 腹部闭合性损伤患者,PLT、FIB 较对照组降低。FIB 的降低与对照组比较也有统计学意义,而且 FIB 是凝血系统中的一个“中心”蛋白质,凝血的最后阶段是凝血酶形成,使 FIB 转变为纤维蛋白^[9],腹部闭合性损伤时,FIB 降低易导致出血。因此,腹部闭合性损伤患者凝血功能检测在判断患者治疗及预后方面有重要临床意义,同时亦为临床纠正凝血功能严重紊乱,

改善患者预后提供依据^[10-12]。

参考文献

[1] 裴青松. 腹部闭合性损伤的诊治[J]. 中国中医药咨讯, 2012, 4 (3): 240.

[2] 蒋灵霓. 凝血及纤溶实验室检验的影响因素及临床应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(2): 196-198.

[3] 魏燕琴, 廖红, 涂继善. 术中自体血回输的临床应用[J]. 宁夏医学杂志, 2003, 25(3): 189-191.

[4] 郭惠, 孔令文, 都定元, 等. 严重创伤失血性休克患者凝血功能测定与输血的临床分析[J]. 创伤外科杂志, 2005, 7(4): 284-286.

[5] 陈敏英. 全身炎症反应综合征及治疗进展[J]. 中国实用外科杂志, 2002, 22(12): 766-768.

[6] 潘光华, 徐庆余, 郑旭东, 等. 早期补充凝血底物对严重创伤合并创伤性凝血病治疗的临床研究[J]. 中国现代医生, 2011, 49(34): 124-125.

[7] 刘牧林, 方先业, 鲍子雨. 腹部闭合性损伤患者早期凝血纤溶变化 [J]. 中华急诊医学杂志, 2001, 10(2): 110-111.

[8] 黄顺伟, 戴伟钢, 管向东. 急性创伤性凝血病的诊疗进展[J]. 医学综述, 2010, 17(3): 407-410.

[9] 欧宁江, 吴岑江, 林健敏. 肝硬化患者凝血抗凝及纤溶指标的变化及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(3): 281-282.

[10] 崔道远. 闭合性腹部损伤血浆凝血功能检测的临床意义[J]. 中华现代外科学杂志, 2005, 2(20): 1897.

[11] 吕安虎. 腹部闭合性损伤 26 例治疗体会 [J]. 基层医学论坛, 2012, 16(17): 2294-2295.

[12] 蒋学新. 腹部闭合性损伤诊治 108 例的几点体会 [J]. 中国社区医师: 医学专业, 2012, 14(19): 219-220.

(收稿日期: 2012-08-08)

(上接第 2870 页)

[8] 葛文亮. 抗核抗体谱的检测在自身免疫性疾病诊断中的价值 [J]. 放射免疫学杂志, 2008, 21(4): 383-384.

[9] 陈绩才, 林秋强, 陈韧. ENA 抗核抗体谱的检测在临床中的应用 [J]. 实用医技杂志, 2004, 8(11): 1412-1413.

[10] 韩建华, 李永哲, 佟大伟, 等. 系统性硬皮病抗核抗体谱的检测分析 [J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(6): 756-759.

[11] Robbins. 基础病理学 [M]. 7 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2003: 131-151.

[12] 车文英, 谭延国, 韦希明. 312 例抗核抗体与抗细胞核细胞浆抗体谱检测结果的分析 [J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(8): 1031-1033.

(收稿日期: 2012-08-08)